

## ¿DE LA HUELLA DE LA SELECCIÓN AL SNP CULPABLE? EL CASO DE LA COMPOSICION QUIMICA DE *m. longissimus* EN CERDOS IBERICOS

Rodríguez C, García-Casco J, Sánchez F\*, Gómez F\*, Pariente JM\*, García F, Caraballo C, Barragán C, Núñez Y, Silió L  
Mejora Genética Animal, INIA, Madrid \* Sánchez Romero Carvajal Jabugo SA  
E-mail: valdo@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Los recientes progresos en genómica, nuevas técnicas de genotipado masivo de SNPs y ensamblajes y anotaciones más precisos de las secuencias de referencia, permiten identificar algunas de las huellas de la selección en el genoma de los animales domésticos (Ma et al., 2015). Ciertos estudios pioneros en este campo se basan en la distribución a nivel genómico de medidas clásicas de diferenciación genética calculadas a partir de las frecuencias de SNPs. Estos recursos han facilitado la identificación de huellas de selección en regiones cromosómicas diana de la selección realizada en animales domésticos para distintos objetivos (Akey et al., 2010; Wilkinson et al., 2013). El mismo enfoque se utilizó para identificar huellas en diversas regiones cromosómicas de la selección experimental para crecimiento magro efectuada a pesos tempranos en la línea de cerdos Ibérico Torbiscal (Rodríguez et al., 2014). El experimento dio lugar a una respuesta negativa en un parámetro clave de la calidad de carne como es el % GIM estimada en animales de ambas líneas sacrificados a 160 kg. Ello hizo plantearnos los objetivos del presente estudio: a) búsqueda de genes candidatos para composición química de *m. longissimus* en las regiones de máxima diferenciación, b) detección y genotipado de SNPs en los genes elegidos y c) estudio de asociación en otra línea de cerdo Ibérico con abundante información fenotípica y sin problemas de estratificación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales.** Los datos utilizados proceden de 635 machos castrados con genealogía controlada de una línea Ibérica Retinta de la empresa Sánchez-Romero Carvajal Jabugo SA. Los animales fueron engordados en montanera a lo largo de tres campañas sucesivas y sacrificados en el matadero de la propia empresa. Los porcentajes de Grasa, Proteína y Humedad fueron determinados mediante NIRS en muestras de *m. longissimus* de acuerdo con Fernández et al. (2008). Las medias (y SD) de los registros fenotípicos aquí analizados fueron 133.5 (8.7) kg de peso canal, 4.8 (1.9) % de Grasa, 21.9 (0.9) % de Proteína y 71.7 (1.5) % de Humedad.

**Genes candidatos, Identificación y Genotipado de SNPs.** El contenido génico de las regiones se identificó utilizando Biomart a partir del ensamblaje *Sscrofa* 10.2, y las funciones de los mismos mediante la herramienta de notación funcional del Max Planck Institute for Molecular Genetics. La detección de SNPs se llevó a cabo en secuencias NGS disponibles de 12 cerdos Ibéricos representativos (Barragán et al., 2015). El genotipado de los SNPs seleccionados se realizó mediante *Open Array* en el SVGM de la UAB

**Análisis de asociación.** Los registros de composición química se analizaron separadamente mediante un modelo animal incluyendo el lote de sacrificio como efecto sistemático y el peso de la canal y el genotipo del SNP como covariables. Este último codificado como el número de copias (0, 1 y 2) de uno de los alelos. Los análisis se realizaron mediante inferencia Bayesiana utilizando el software TM (Legarra et al., 2008). Los estadísticos usuales se calcularon a partir de 10.000 del millón de muestras obtenidas de la distribución marginal posterior de cada parámetro de interés.

### RESULTADOS

**Huellas y Genes candidatos.** Una búsqueda exhaustiva del contenido génico de las regiones que presentaban huellas de la selección en el experimento citado (Rodríguez et al., 2014), nos permitió identificar 12 genes elegidos con criterio amplio como posibles

candidatos para composición química del lomo, por estar relacionados con crecimiento muscular o composición corporal en mamíferos. En la tabla 1 se describen estos genes además del número y localización cromosómica de los SNPs detectados en ellos en las 12 secuencias NGS de cerdos Ibéricos disponibles.

Tabla 1. Elección de genes candidatos para composición química de lomo en las regiones cromosómicas con huellas de selección

Cromosoma	Genes Candidatos	SNPs detectados en cerdos Ibéricos	Rango posiciones SNPs (Mb)
1	<i>COL27A1</i>	6	285.86 – 286.03
1	<i>TNC C</i>	5	286.78 – 286.80
1	<i>TNFRSF8</i>	2	286.56 – 286.57
4	<i>AGL</i>	4	129.77 – 129.82
5	<i>VDR</i>	3	81.28 – 81.33
9	<i>MYOG1</i>	1	125.24
9	<i>FASLG</i>	3	126.64 – 126.65
15	<i>MAP2</i>	4	124.12 – 124.17
15	<i>UNC80</i>	3	124.22 – 124.38
17	<i>ARFGEF2</i>	4	56.98 – 57.08
17	<i>ZNFX1</i>	3	57.20 – 57.21
17	<i>PTGIS</i>	7	57.48 – 57.52

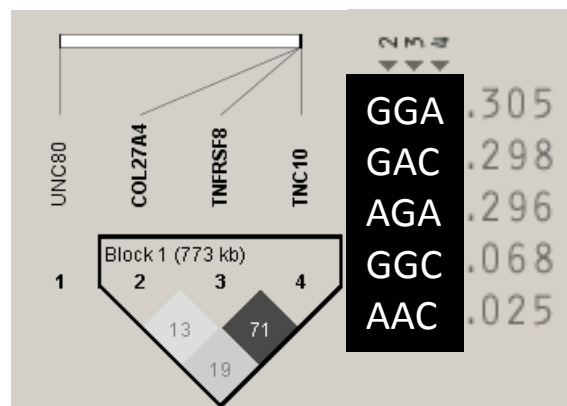
**Resultados de genotipado y asociación.** El genotipado de los 45 SNPs detectados en los potenciales genes candidatos hizo necesario descartar 23 de ellos por dos motivos diferentes: cosegregación de dos o más SNPs del mismo gen o frecuencias extremas en la línea analizada ( $MAF < 0.15$ ). Tras esta segunda criba, el número de genes utilizables en los análisis de asociación fue únicamente de 11 con un total de 22 SNPs, al quedar excluido el único SNP del gen *MYOG1*. Los resultados de estos análisis mostraron únicamente efectos aditivos significativos en cuatro SNPs de otros tantos genes de los cromosomas 1 (*COL27A1* SNP4 G>A, *TNFRSF8* SNP1 A>C, *TNC C* SNP4 G>A,) y 15 (*UNC80* SNP1 T>A). La magnitud y dispersión de estos efectos sobre la composición química del lomo se detalla en la tabla 2. Los restantes siete genes no mostraron ninguna asociación sustancial con los caracteres analizados.

Tabla 2. Principales estadísticos de la d.m.p. de los efectos relevantes de cuatro SNPs de genes candidatos sobre la composición química de *m. longissimus* en cerdos Ibéricos

	<i>COL27A1</i> G > A	<i>TNFRSF8</i> A > C	<i>TNC C</i> G > A	<i>UNC80</i> T > A
<b>% Grasa</b>				
Media	0.38	0.33	0.27	0.39
95% IC	0.14 / 0.62	0.07 / 0.60	0.01 / 0.52	0.13 / 0.65
Probabilidad >0	0.999	0.992	0.981	0.999
<b>% Proteína</b>				
Media	- 0.18	- 0.18	- 0.11	- 0.15
95% IC	-0.29 / - 0.07	-0.31 / - 0.06	- 0.23 / 0.01	-0.27 / - 0.02
Probabilidad >0	0.001	0.002	0.003	0.009
<b>% Humedad</b>				
Media	- 0.20	- 0.21	- 0.20	- 0.26
95% IC	- 0.38 / -0.02	- 0.41 / - 0.01	- 0.39 / - 0.01	- 0.46 / - 0.06
Probabilidad >0	0.014	0.031	0.020	0.049

La magnitud de estos efectos es importante, ya que oscilan entre el 6 y el 8% de la media del contenido de GIM en la línea estudiada. En el repositorio *PigQTL database* figuran dos QTL para % GIM detectados en la raza Duroc y localizados en posiciones próximas a las de los SNPs anteriores: 287.364.389 - 287.463.763 (cromosoma 1) y 127.040.952 - 128.002.384 (cromosoma 15). Ello confirma el interés de los resultados aquí obtenidos. El gen de la Tenascina C (*TNC*) ha sido asociado a varios parámetros de calidad (color, pH, pérdidas por descongelación) y cuantitativos (área del músculo y grasa dorsal) determinados en el *m longissimus* porcino (Kayán et al. 2011), pero no consta que su relación con el %GIM haya sido estudiada hasta ahora. La interpretación biológica de los efectos descritos de los restantes genes es más compleja, tanto para *COL27A1* (Wang et al., 2015) y *TNFRSF8* (Stewart et al., 2010) como especialmente para el gen *UNC80* (Stray-Pedersen et al., 2016).

**Desequilibrio entre SNPs.** Por otra parte, en la identificación de los genes responsables de la huella de la selección debe tenerse en cuenta la proximidad de los tres genes del cromosoma 1, que aconseja calcular el desequilibrio de ligamiento (DL) entre ellos. Los resultados de este análisis se representan en la siguiente figura, que incluye al gen *UNC80* del cromosoma 15 no ligado a los anteriores. Los SNPs analizados de los genes *COL27A1*, *TNFRSF8* y *TNC C* forman un bloque de 773 kb en el que se identifican cinco haplotipos intergénicos. Los valores de DL calculados mediante  $r^2$ , especialmente importante entre los SNPs de los genes *TNFRSF8* y *TNC C*, indican la no independencia de los efectos detectados en este cromosoma. Estos resultados como la difícil interpretación funcional de los efectos del gen *UNC80* dificultan establecer la causalidad de los efectos detectados. Como en las novelas policíacas clásicas hemos ido descartando posibles culpables. El problema es que en la genómica animal no hay un mayordomo al que cargar el muerto. Un futuro análisis por haplotipos basado en un mayor número de animales y estudios adicionales de expresión podrían aportar nuevas pistas. Parece más próxima la utilidad de las asociaciones detectadas para el control del %GIM en la selección de cerdos Ibéricos.



### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akey JM 2010. *PNAS* 107 (3): 1160-65.
- Barragán C et al. 2015. *XVI Jornadas sobre Producción Animal*, II: 579-81.
- Fernández A et al. 2003. *Meat Science* 64: 405-10.
- Kayán A et al. 2011. *Meat Science* 89: 76-83.
- Rodríguez MC et al. 2014. *10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, paper 934.
- Stray-Pedersen A et al. 2016. *American Journal Human Genetics* 98: 202-09
- Wang K et al. 2015. *PLOS ONE* DOI:10.1371/journal.pone.0139207
- Wilkinson S et al. 2013. *PLOS Genetics* 9 4.

**Agradecimientos:** Financiación del Proyecto INIA RTA2011-00113 y Convenio CON12-047 INIA-SRC.